Münster 1937 No 86 Med DiSS

Aus dem Pharmakologischen Institut
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster / Westf.
Direktor: Prof. Dr. L. Lendle

Über den Einfluß von Eisen, Nickel, Kobalt, Mangan und Kupfer auf die Autolyse von Leber, Milz und Muskel.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster in Westf.

vorgelegt von

Dr. phil. Xaver Krekeler
Zahnarzt
aus Ottenhausen (Kreis Höxter)

1937

Druckausführung: Buchdruckerei Franz Grube, Werne a. d. Lippe

Dekan: Professor Dr. Jötten

Referent: Dozent Dr. med. et phil. W. Haarmann

Korreferenten: Professor Dr. Lendle

Professor Dr. Rosemann

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster (Westf.)

Meiner lieben Frau!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547221_0254

Eisen, Nickel und Kobalt stehen in der 8. Gruppe des periodischen Systems, während Mangan der 7. und Kupfer der 1. Gruppe angehören. Wie alle Schwermetalle so besitzen sie ganz allgemein die Eigenschaft, eine ganze Reihe von chemischen Reaktionen zu beschleunigen oder erst in Gang zu bringen. Besonders bekannt ist ihre biokatalytische Wirkung auf die sauerstoffverbrauchenden Vorgänge, wobei die niedrigere Oxydationsstufe der betreffenden Metallverbindungen zunächst Sauerstoff aufnimmt, um ihn dann in der höherwertigen Oxydationsstufe wieder an das Substrat abzugeben.

In erster Linie ist in den letzten Jahrzehnten der katalytische Einfluß des Eisens auf die verschiedensten organischen Stoffe untersucht worden. So konnten Warburg und Sakuma[1]) zeigen, daß reines Cystein, welches an sich nicht autoxydabel ist, schon bei Zusatz von geringen Eisenmengen oxydiert werden kann. Aehnliche Beobachtungen machten Meyerhof und Matsuoka[2]) hinsichtlich der Autoxydation von Fructose und Warburg[3]) bezüglich der Oxydation von Aminosäuren. Von einem günstigen Einfluß von Eisen auf die oxydativen Vorgänge im lebenden Gewebe berichtet uns ferner Warburg[4]). Auch in 2 Arbeiten aus dem hiesigen pharmakologischen Institut fanden Hölscher[5]) und Steinkamp[6]), daß durch die Eisensalze sowohl die anaeroben Stoffwechselvorgänge eine Beschleunigung erfahren als auch die Sauerstoffaufnahme des überlebenden Gewebes eine Steigerung aufweist. Auf den oxydationsfördernden (dissimilierenden) Einfluß auf den Stoffwechsel von Tumoren haben in jüngster Zeit wieder Seel und Carls[7]) aufmerksam gemacht.

---

[1]) O. Warburg und S. Sakuma: Pflügers Arch. 200, 203, 1923 zit. n. Heffters Handb. d. exp. Pharm. Berlin, Springer 3/II, 739, 1934.
[2]) O. Meyerhof und K. Matsuoka: Biochem. Z. 150, 1, 1924.
[3]) O. Warburg: ebenda 145, 461, 1924.
[4]) O. Warburg: Hoppe-Seylers Z. 92, 231, 1914.
[5]) W. Hölscher: Inaug.-Diss. Münster 1933.
[6]) Th. Steinkamp: Inaug.-Diss. Münster 1936.
[7]) H. Seel und H. Carls: Zeitschr. f. Krebsforschung 40, 416, 1934.

Die zellaufbauende Wirkung des Eisens ist schon lange bekannt, steht doch das Eisen bei der Behandlung von anaemischen Zuständen an erster Stelle. Nach Rissmann[8]) liegt seine Wirkung im tierischen Organismus in erster Linie im Aufbau des Haemoglobinmoleküls begründet, nebenher werden aber auch durch die Eisensalze Reize auf die blutbildenden Organe des Körpers ausgeübt, wodurch eine beschleunigte Kernteilung der jugendlichen Zellformen eintritt. Weiterhin führen Kochmann und Seel[9]) die günstige Wirkung eisenhaltiger Wässer auf den Organismus darauf zurück, daß diese den Stoffwechsel in Richtung auf eine Aktivierung der Assimilationsvorgänge beeinflussen.

Wie aus einer zusammenfassenden Mitteilung von Starkenstein[10]) hervorgeht, ist das 2wertige Eisen in der Therapie dem 3wertigen überlegen. Dies liegt daran, weil die Ferriionen im Gegensatz zu den Ferroionen, die nach Pauli[11]) und Heubner[12]) kein Eiweiß fällen, eine eiweißfällende Wirkung besitzen und daher schlecht resorbiert werden können.

Nickel und Kobalt spielen gegenüber dem Eisen in der Therapie eine weit untergeordnetere Rolle. Nach Hendrych und Weden[13]) besitzen diese Schwermetalle nur in Ausnahmefällen die Fähigkeit, Sauerstoff zu übertragen und zwar unter Bedingungen, wie wir sie im Organismus im allgemeinen nicht antreffen. Nach ihnen reagieren Nickel und Kobalt in ihren 2wertigen Verbindungen nicht eiweißfällend, wobei allerdings die Einschränkung gemacht wird, daß es nicht gleichgültig ist, in welcher Form das Eiweiß vorliegt.

Mangan steht bezüglich seiner katalytischen Wirkung dem Eisen sehr nahe. Die Salze des Mangans üben wie die des Eisens auf die Oxydationsvorgänge vieler organischer und anorganischer Stoffe einen günstigen Einfluß aus. So fand Warburg[14]), daß sich eine Lösung von Cystein in m Boratpuffer ($P_H = 9.5$) an der Luft bei Zusatz von kleinen Mengen $MnSO_4$

---

[8]) E. F. Rißmann: Fortschr. d. Therapie 11, 247, 1935.

[9]) M. Kochmann und H. Seel: Biochem. Zeitschr. 198, 362, 1928.

[10]) E. Starkenstein: Heffters Handb. d. exp. Pharm. Berlin, Springer 3/II, 731, 1934.

[11]) W. Pauli: Biochem. Z. 41, 461, 1912.

[12]) W. Heubner: Ther. Mh. 27, 44, 1912 zit. n. Heffters Handb. d. exp. Pharm. Berlin, Springer 3/II, 733, 1934.

[13]) F. Hendrych u. H. Weden: Heffters Handb. d. exp. Pharm. Berlin, Springer 3/II, 1413, 1934.

[14]) O. Warburg: Biochem. Z. 233, 245, 1931.

oxydiert. Ebenso beschreibt Bertrand[15]), daß auch die oxydierende Wirkung von Oxydasen durch Manganosulfat erhöht wird. Hinsichtlich des Verhaltens zu Eiweiß ist zu bemerken, daß es nach Langecker[16]) nicht gelingt, mit Manganosalzen Eiweiß zu fällen.

Kupfer nimmt in der Therapie schon seit geraumer Zeit einen bedeutenden Platz ein. Kobert[17]) erwähnt z. B., daß es schon die alten Aegypter im Jahre 2000 v. Chr. zu Heilzwecken benutzten. Bekannt ist von Kupfer besonders seine Wirkung auf Eisensalze. Schon Spuren von Cu genügen, um die katalytische Wirkung von Eisen merklich zu erhöhen. Doch handelt es sich dabei wie Starkenstein[18]) auseinandersetzt, nicht um eine bloße Addition der Wirkung zweier Substanzen, sondern die Eigenschaften des Eisens werden dabei gewissen Aenderungen unterworfen. Die grundlegenden Versuche über die potenzierende Wirkung von Eisen durch Zusatz von Kupfer gehen zurück auf die Amerikaner Hart, Steenbock u. Mitarbeiter.[19]) [20]) Wie Schiff, Eliasberg und Joffe[21]) referierend berichten, konnte Steenbock bei seinen Tierfütterungsversuchen die Wahrnehmung machen, daß Gaben von chemisch reinen Eisensalzen bei anaemischen Ratten absolut unwirksam sind. Das Eisen wird erst wirksam, wenn der für die Tiere bestimmten Nahrung frische Kohl- und Salatblätter zugesetzt werden. Er konnte weiterhin feststellen, daß die Asche dieser Pflanzen außer Eisen noch Kupfer enthält und daß dieses Kupfer der Bestandteil ist, der das reine Eisen aktiviert. Aehnliche Ergebnisse erzielte Schiff selbst bei der Behandlung alimentärer Anaemien von Kindern. Schon nach einer Woche wurde auch hier nach Verabreichung von 1%iger Kupfersulfatlösung eine sichtbare Zunahme von Erythrozyten und Haemoglobin beob-

---

[15]) G. Bertrand: C. r. Acad. Sci. Paris, 124, 1355, 1897 zit. n. Heffters Handb. d. exp. Pharm. Berlin, Springer 3/II, 1296, 1934.

[16]) Langecker: Heffters Handb. d. exp. Pharm. Berlin, Springer 3/II, 1301, 1934.

[17]) R. Kobert: zit. n. Lichtenstein, Deutsche Aerztezeitg. Nr. 259, 12, 1931.

[18]) E. Starkenstein: Heffters Handb. d. exp. Pharm. Berlin, Springer 3/II, 747, 1934.

[19]) E. B. Hart, H. Steenbock, J. Waddel, C. A. Elvehjem, Evelyn van Donk u. Blanche, M. Riising: J. of biol. Chem. 77, 797, 1928.

[20]) J. Waddel, H. Steenbock u. E. B. Hart: J. of biol. Chem. 83, 243, 1929, zit. n. Heffters Handb. d. exp. Pharm. Berlin, Springer 3/II, 1183, 1934.

[21]) H. Schiff, H. Eliasberg u. N. Joffe: Klin. Wochenschr. Nr. 46, 2144, 1930.

achtet. Berücksichtigen wir schließlich noch, daß Warburg[22]) im Blutserum des Menschen einen konstanten Kupfergehalt von 0.2—0.4% der Gesamteisenmenge des Blutes nachwies, so kann daraus geschlossen werden, welch großen Wert die Kupfersalze für den menschlichen Organismus besitzen.

Der Zweck unserer Arbeit war es nun zu untersuchen, welchen Einfluß Eisen, Nickel, Kobalt, Mangan und Kupfer auf die proteolytischen Vorgänge in Leber, Milz und Muskel ausüben.

Bekanntlich wird die postmortale Autolyse des tierischen Gewebes dadurch eingeleitet, daß durch die in den einzelnen Organen entstehende Milchsäure die proteolytischen Fermente aktiviert werden und die Eiweißspaltung mit zunehmender Durchsäuerung des Gewebes ihren Höhepunkt erreicht. Nach Kleinmann u. Stern[23]) ist diese in allen tierischen Zellen aufgefundene Proteinase, die nach ihnen zur normalen Ausrüstung der Zelle gehört, identisch mit dem von Willstätter und Baumann[24]) so benannten Kathepsin. Dieses läßt sich nach der von Waldschmidt-Leitz u. Deutsch[25]) angegebenen Methode durch essigsaures Glyzerin aus Milz und Leber extrahieren.

Im Gegensatz zu Waldschmidt-Leitz und Mitarbeiter[26]), nach denen von den proteolytischen Fermenten das Kathepsin erst durch die bei der Autolyse sich bildende Zookinase aktiviert wird und sich in unaktiviertem Zustande Eiweiß gegenüber völlig unwirksam erweist, fanden Maschmann und Helmert[27]), daß ein großer Teil der katheptischen Gewebsproteinase eines Aktivators nicht bedarf, weil sie schon am normalen Stoffwechsel der lebenden Zelle teilnimmt.

Gegenüber dem normalen Ablauf der postmortalen Gewebspepsinasewirkung hat man nun vielfach versucht, die proteolytischen Vorgänge durch Zusatz irgendwelcher Salzlösungen zu beeinflussen, sei es im aktivierenden, sei es im hemmenden Sinne. Die Untersuchungen, welche in den letzten Jahrzehnten in dieser Beziehung mit den verschiedensten Schwermetallen ausgeführt wurden, sind sehr zahlreich.

---

[22]) O. Warburg: ebenda Nr. 23, 1094, 1927.
[23]) H. Kleinmann u. K. G. Stern: Biochem. Z. 222, 31, 1930.
[24]) R. Willstätter u. E. Baumann: Z. f. physiol. Chem. 180, 127, 1929.
[25]) E. Waldschmidt-Leitz und Deutsch: ebenda 58, 539, 1909.
[26]) E. Waldschmidt-Leitz, H. Scharikova u. A. Schäffer, Hoppe-Seylers, Zeitschr. 214, 75, 1933.
[27]) E. Maschmann und E. Helmert: ebenda 216, 141, 1933 und 222, 215, 1933.

Von den älteren Arbeiten seien hier an erster Stelle die Berichte von Ascoli und Izard[28]) erwähnt, in denen die Einwirkung anorganischer Kolloide auf die Autolyse beschrieben wird. Nach ihnen zeigen die Hydrosole der verschiedensten Metalle hinsichtlich ihrer Wirkung auf den Ablauf des Gewebeabbaues große Unterschiede. Sowohl Cu als auch MnO_2 üben auf die Leberautolyse zunächst eine fördernde, später eine hemmende Wirkung aus. Schon kleine Mengen von Cu ($2{,}2 \cdot 10^{-4}$ gr auf 50 gr Leberbrei, der mit H_2O und dem betr. Metallkolloid auf 500 ccm aufgefüllt ist) ergeben eine Steigerung des nicht koagulierbaren Stickstoffes um 10%. Von MnO_2 genügen ebenfalls schon $3 \cdot 10^{-4}$ gr, um die Gesamtautolyse um 9% zu fördern. Nachdem bei beiden allmählich ein Maximum in der Steigerung erreicht ist, folgt am Schluß eine Hemmung. Aehnlich verhält sich das Fe-Hydrosol und das kolloidale $Fe(OH)_3$, obschon zwischen diesen beiden Unterschiede in quantitativer Hinsicht angegeben werden. Während also Cu, MnO_2, Fe und $Fe(OH)_3$ in kolloidaler Form zugesetzt, schon in geringen Mengen genügen um den autolytischen Prozeß stark zu beeinflussen, sind nach Ascoli und Izard von Metallen wie Al, Pb, Au, Pt bedeutend größere Mengen notwendig, um eine Zunahme des nichtkoagulierbaren Stickstoffes zu bewirken.

Weiterhin hat Preti[29]) sich mit der Wirkungsweise der verschiedensten Schwermetallsalze auf die Autolyse beschäftigt. Wie aus seinen Versuchsprotokollen hervorgeht, haben u. a. Eisenchlorid und -sulfat, Manganchlorid und -sulfat und Kobaltchlorid und -nitrat, wenn sie dem Leberbrei in so geringen Dosen zugesetzt werden, daß sie die Eiweißstoffe nicht schon sofort im Sinne einer Verminderung des nichtkoagulierbaren N beeinflussen, eine Steigerung der Autolyse zur Folge. Die Förderung nimmt zu mit steigender Konzentration. Die Konzentrationen bewegten sich in folgenden Stärken:

Fe $1{,}118 \cdot 10^{-3}$ bis $55{,}9 \cdot 10^{-3}$ gr,
Mn $11 \cdot 10^{-3}$ bis $550 \cdot 10^{-3}$ gr,
Co $5{,}9 \cdot 10^{-3}$ bis $59 \cdot 10^{-3}$ gr.

Die Metallsalze wurden in einer aequimolekularen Lösung in steigender Konzentration mit 1000 ccm Chloroformwasser aufgenommen und je 100 gr des Leberbreies zugesetzt. Eine Abweichung zeigten Manganacetat und Kobaltchlorid. Bei diesen er-

[28]) M. Asocoli u. G. Izard: Biochem. Z. 5, 394, 1907; dieslben ebenda 6, 192, 1907 und 17, 361, 1909.
[29]) L. Preti: Hoppe-Seylers Zeitschr. 58, 539, 1909, 60, 317, 1909.

gibt sich anfangs eine Vermehrung des nichtkoagulierbaren N, bis ein Maximum erreicht ist, dann tritt eine Hemmung ein. Kupfersulfat hat in geringen Mengen keinen merkbaren Einfluß auf die Eiweißspaltung. Erst in größeren Mengen kommt es zu einer Hemmung der Autolyse. Nickelchlorid und -nitrat hemmen den Eiweißabbau in der Art, daß sie eine Verminderung des nichtkoagulierbaren Stickstoffes schon vor Eintritt der Autolyse bewirken, indem durch die betreffenden Nickelsalze eine Fällung stattfindet.

Auch die Resultate von Bradley und Morse[30]), die hinsichtlich der Wirkungsweise von Mangan zu ähnlichen Ergebnissen gekommen sind, verdienen hier genannt zu werden. Ferner die Untersuchungen von Kottmann und Schapiro[31]), die ergaben, daß nach Zugabe von $FeSO_4$ zu Leberbrei die Autolyse gesteigert wird.

Zu diesen älteren Arbeiten ist zu bemerken, daß sie uns wenig befriedigen. In erster Linie schon deswegen nicht, weil die betreffenden Versuche im allgemeinen mit ungepufferten Lösungen durchgeführt wurden. So ließen Ascoli und Izard lediglich die nach der Bredigschen Methode hergestellten Metallkolloide auf den mit H_2O versetzten Leberbrei einwirken, wobei allein den betr. elektrisch aufgeladenen Einzelkolloiden die aktivierende bezw. hemmende Rolle bei der Gewebsautolyse zufällt. Wir wissen aber heute, worauf noch weiter unten näher einzugehen ist, daß das Säureoptimum, bei dem die Autolyse abläuft, bei $P_H = 4$ liegt. Auch die anderen Untersucher haben bei ihren Arbeiten auf die Anwendung eines Säurepuffers verzichtet. Auf diese Weise kommen natürlich bei Zusatz der einzelnen Metallsalzlösungen die verschiedensten Dissoziationsgrade zustande und die Aktivierung bezw. Hemmung der Autolyse tritt hier in erster Linie dadurch ein, daß infolge des wechselnden P_H Reaktionsverschiebungen stattfinden. Da es somit an konstanten Vergleichswerten mangelt, wird das Ergebnis der einzelnen Versuchsreihen für uns ziemlich wertlos. Ein weiterer Nachteil der erwähnten Untersuchungen besteht darin, daß durchweg mit zu großen Dosen von Metallkolloiden und Metallsalzlösungen gearbeitet wurde und daß die Autolysendauer über eine zu große Zeitspanne — so durch Preti auf 72 Stunden — ausgedehnt worden ist. Aus den angeführten Gründen können wir daher

[30]) H. C. Bradley u. M. Morse: J. of biol. Chem. 21, 209, 1915, zit. n. Heffters Handb. d. exp. Pharm. Berlin Springer 3/II, 1305, 1934.

[31]) K. Kottmann und L. Schapiro: Z. f. exp. Pharm. 11, 355, 1912.

den genannten Arbeiten nur noch einen historischen Wert zuerkennen.

Einen großen Schritt weiter brachten uns in der Erforschung des Ablaufes der Proteolyse des tierischen Gewebes die Untersuchungen von Rona und Mislowitzer[32]). Sie berücksichtigten nämlich, daß die Autolyse stets abhängig ist von dem jeweiligen Grade der Wasserstoffionenkonzentration des betreffenden Mediums. Weiterhin stellten sie fest, daß schon eine kurz einwirkende alkalische Reaktion die Wirkung des autolytischen Fermentes zunichte macht, woraus auf die Abwesenheit einer Gewebstryptase geschlossen werden kann.

Auch Stern[33]) fand bei 99% seiner mit der doppelten Gewichtsmenge essigsauren Glycerins gewonnenen Organauszügen eine Gewebsproteinase und zwar das Kathepsin. Das P_H, bei dem die Autolyse den günstigsten Verlauf nimmt, ist nach ihm bei den einzelnen tierischen Individuen grundverschieden. Es richtet sich ganz nach dem Substrat und dem Reinheitszustande des Enzyms. Für Milz, Leber und Muskel vom Kalb liegt das optimale P_H des Mediums bei 4. Bei Zusatz von Schwermetallösungen zu den aus Kalbsmilz und -leber gewonnenen Extrakten, die außer dem Kathepsin im Durchschnitt noch 0,8% des Organeiweißes enthielten, machte Stern folgende Wahrnehmungen: Wenn $Cu^{\cdot\cdot}$ in einer Konzentration von $7 \cdot 10^{-2}$ mg/ccm zugesetzt wurde, trat bei der Milzextraktautolyse eine Steigerung um 135% auf. $Mn^{\cdot\cdot}$ in einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-1}$ mg/ccm und $Fe^{\cdot\cdot}$ in einer solchen von $7 \cdot 10^{-2}$ mg/ccm steigerten beide die Autolyse um 190%. Bei der Leber liegen die Werte bei denselben Verdünnungen für $Cu^{\cdot\cdot}$ bei 100%, für $Mn^{\cdot\cdot}$ bei 165% und für $Fe^{\cdot\cdot}$ bei 150%.

Nach Michaelis und Stern[34]) ist endlich die Wirksamkeit der verschiedenen Metallsalzlösungen auf die proteolytischen Vorgänge abhängig von der Bindungsform. Von den Doppellsalzen steigert z. B. Ferriammoniumsulfat in der Konzentration von $7 \cdot 10^{-2}$ mg/ccm gegenüber einfachen Eisenverbindungen wie Ferritartrat die Extraktautolyse um 191%. Bei Ferrosulfat beträgt der Effekt im Gegensatz zu Ferritartrat 163%.

Wenn wir nun diese von Stern und Michaelis angegebenen Zahlen kritisch betrachten, so ist dazu zu sagen, daß

---

[32]) E. Rona u. E. Mislowitzer: Biochem. Z. 140, 517, 1923, ebenda 146, 1, 1924.
[33]) K. G. Stern: Biochem. Z. 234, 116, 1931.
[34]) L. Michaelis u. K. G. Stern: Biochem. Z. 240, 192, 1931.

die großen Steigerungen der Autolyse wahrscheinlich dadurch bedingt sind, daß in den betr. Glycerinextrakten das Kathepsin in verhältnismäßig reiner Form vorliegt. Aus diesem Grunde sind denn auch die Werte für uns als Vergleichszahlen nicht zu gebrauchen. Wir gingen nämlich bei unseren Versuchen von der Ueberlegung aus, daß die Gewebsproteinase bei der postmortalen Autolyse durch die in dem betr. Organ vorhandenen „normalen Hemmungskörper" beeinflußt wird. Zu diesen Hemmungskörpern rechnen wir mit H e d i n [35]) besonders die im Gewebe auftretenden wirkungsbeschränkenden Adsorptionen. Ferner ist es von vielen Schwermetallen, so z. B. auch von Eisen und Kupfer bekannt, daß sie, jedenfalls infolge ihrer adstringierenden Wirkung auf das Gewebe, die Gewebsoberfläche für die angreifenden Enzyme verringern und dadurch den Stoffwechsel herabsetzen. Wir haben daher bei der Ausführung unserer Untersuchungen nicht wie die meisten der neueren Autoren mit Glycerinextrakten gearbeitet, sondern den ganzen Organbrei benutzt. Auf diese Weise schufen wir uns auch normale Versuchsbedingungen, die gestatteten, den Abbau des gesamten im Organismus vorhandenen arteigenen Eiweißes zu studieren, während in den Glycerinextrakten nur ein verschwindend kleiner Teil des zusammen mit dem Kathepsin ausgezogenen Organeiweißes der Autolyse unterworfen wird.

Wir prüften folgende anorganische Verbindungen hinsichtlich ihres Einflusses auf die Autolyse von Leber, Milz und Muskel: Die Sulfate des 2- und 3wertigen Eisens. Ferner die zur gleichen Gruppe gehörenden Cobalto- und Nickelosulfate und Mangano- und Cuprisulfate. Von diesen wirken, wie schon erwähnt, das Ferrosulfat, Nickelo-, Cobalto- und Manganosulfat nicht eiweißfällend, während Ferri- und Cuprisulfat mit Eiweiß schwer lösliche Albuminate bilden. Neben diesen Verbindungen wurden die entsprechenden komplexen Saccharate untersucht, die sämtlich mit dem Eiweiß keine unlöslichen Verbindungen eingehen. Ferner die Kombinationswirkungen von Ferro- bezw. Ferrisaccharat mit den Saccharaten von Nickel, Kobalt, Mangan und Kupfer. Die Saccharate wurden uns von der Firma Opfermann u. Sohn, Bergisch Gladbach zur Verfügung gestellt. Das Ferrosaccharat ist unter dem Namen Aegrosan im Handel. Das von uns verwendete Ferrosaccharat ist frei von Geschmackskorrigentien.

---

[35]) S. G. Hedin: Zeitschr. phys. Chem. 50, 427, 1907; 52, 412, 1907; 82, 175, 1912.

Die Konzentration der Metallverbindungen in den einzelnen Versuchsansätzen bezieht sich auf den Metallgehalt und nicht auf den Gehalt der Sulfate und Saccharate.

Die benutzten Metallsalzlösungen sind in Folgendem kurz zusammengestellt:

Ferrosulfat ($FeSO_4.7\ H_2O$)
Ferrisulfat ($Fe_2(SO_4)_3.1\ H_2O$)
Ferrosaccharat (Aegrosan)
Ferrisaccharat (Eisenzucker D. A. B. VI)
Nickelsulfat ($NiSO_4.7\ H_2O$)
Kobaltsulfat ($CoSO_4.x\ H_2O$)
Mangansulfat ($MnSO_4.x\ H_2O$)
Kupfersulfat ($CuSO_4.5\ H_2O$)
Nickelsaccharat (ca. 10 gr Ni auf 1000 ccm)
Kobaltsaccharat (ca. 15 gr Co auf 1000 ccm)
Mangansaccharat (ca. 15 gr Mn uf 1000 ccm)
Kupfersaccharat (ca. 15 gr Cu auf 1000 ccm)

Versuchstechnik.

Das frisch vom Schlachthof bezogene, noch lebenswarme Gewebe wurde praepariert, d. h. von den überflüssigen Häuten, größeren Gefäßen, bezw. Sehnen, Fett und Fascien befreit und durch die Fleischmaschine getrieben. Dann wurden bei den einzelnen Versuchsansätzen je 10 gr des Organbreies mit 10 ccm Acetatpuffer ($P_H = 3{,}95$), 20 ccm Wasser und 10 ccm der jeweiligen Konzentration der Metallsalzlösung in 100er Fläschchen zu einem Volumen von 50 ccm aufgefüllt, gut durchgeschüttelt und bei Zimmertemperatur 24 Stunden der Autolyse überlassen. Bei den Kombinationen mit Glukose ist allerdings anstatt Wasser 20 ccm 0,5%ige Glucoselösung verwandt, bei den Kombinationen mit den Saccharaten erhöhte sich der jeweilige Zusatz der Metallsalzlösungen von 10 auf 20 ccm im Mischungsverhältnis 1:1, wogegen der Wasserzusatz bei diesen Versuchsreihen jeweils statt 20 ccm nur 10 ccm betrug. Die Kontrollversuche enthielten stets 10 gr Gewebe, 30 ccm Wasser und 10 ccm Pufferlösung. Die einzelnen Versuchsproben wurden immer doppelt und zu jeder Versuchsreihe 4 Kontrollen angesetzt. Um Fäulnis zu vermeiden, setzten wir zu jeder Probe einige Tropfen Toluol hinzu.

Nachdem nach 24 Stunden unterbrochen und das Eiweiß quantitativ mit 50 ccm 10%iger Trichloressigsäure ausgefällt worden war, konnte abfiltriert und entzuckert werden. Die Ent-

zuckerung geschah folgendermaßen: Je 50 ccm Filtrat wurden mit 20 ccm 10%iger Kupfersulfatlösung versetzt und 33%ige Natronlauge solange hinzugegeben, bis eben noch ein Niederschlag bestehen blieb. Dann wurde in 100 ccm Kölbchen mit Kalkmilch (1 kg Aetzkalk + 5 ltr Wasser) bis zur Marke aufgefüllt und abfiltriert. Durch die entstehende Kupferkalkfällung werden alle Kohlenhydrate als unlösliche Kupferkalkverbindungen niedergeschlagen. Die Entfernung der Kohlenhydrate ist deswegen notwendig, weil Kupferhydroxyd, das durch Umsetzung von Kupfersulfat mit Natronlauge entsteht, mit Kohlenhydraten lösliche Kupferkomplexsalze gibt.

Das Filtrat zeigte in allen Fällen Biuretreaktion. Die Farbe war je nach der Anwesenheit von Aminosäuren von niederen oder höheren Peptiden tiefblau bis violett gefärbt. Die quantitative Bestimmung der Eiweißspaltprodukte geschah jodometrisch. 25 ccm des Endfiltrates wurden mit 5 ccm HCl 1:1 angesäuert, mit 3 ccm 40%iger Kaliumjodidlösung versetzt und nach Zugabe von einigen Tropfen Stärkelösung als Indicator mit n/100 Natriumthiosulfatlösung entfärbt.

Es sei besonders darauf hingewiesen, daß die in den Tabellen angegebenen Zahlen stets den Mittelwert von zwei angesetzten Versuchsproben darstellen. Bei den Kontrollen haben wir es jedesmal mit dem Mittelwert von 4 Versuchsansätzen zu tun. Die Streuung der Kontrollversuche ist in den einzelnen Tabellen hinter den betreffenden Mittelwerten angegeben. Sie schwankt zwischen ± 2,5 und 5%, sodaß wir bei unserer Arbeitsmethode mit einer Fehlergrenze von maximal 10% zu rechnen haben. Der Jodeigenverbrauch der verschiedenen Zusatzlösungen ist bei allen mitgeteilten Zahlen stets in Abzug gebracht worden. Dasselbe gilt auch für das Muskelgewebe, das zwar bei neutraler Reaktion innerhalb von 24 Stunden noch keine Eiweißspaltung im Endfiltrat erkennen läßt, dessen klares Endfiltrat aber bei der jodometrischen Behandlung einen, wenn auch nur sehr schwachen Jodeigenverbrauch von 0,1 ccm n/100 Natriumthiosulfat besitzt.

Da sich im Laufe der Ausarbeitung der Versuchsmethode, bei der die verschiedensten Pufferlösungen ausprobiert wurden, ergab, daß die optimale Wasserstoffionenkonzentration, bei welcher die Autolyse von Leber, Milz und Muskel vom Rind abläuft, bei $P_H = 3{,}9 - 4$ liegt, wurde eine Natriumacetatpufferlösung von $P_H = 3{,}95$ benutzt. Die Herstellung der Lösung geschah wie folgt: 6 Teile Eisessig (36 ccm) und 1 Teil Natriumacetat (13,4 gr) wurden mit aqua dest. auf 1 ltr aufgefüllt.

Die Versuchsergebnisse.

Versuchsreihe I (Tabelle 1, 2, 3, 4).

In der ersten Versuchsreihe wurde der Einfluß der Eisenverbindungen auf die Proteolyse von Leber, Milz und Muskel geprüft. Die Versuche einer Reihe sind stets an dem Gewebe desselben Tieres ausgeführt. Die Versuchsdauer betrug 22—24 Stunden.

Die Versuchsergebnisse zeigen, daß die Autolyse von Leber und Milz ungefähr gleich schnell verläuft, während die Proteolyse von Muskelgewebe ungefähr den 5. Teil ausmacht.

Ferrosulfat läßt die autolytischen Vorgänge in der Leber und in der Milz fast gänzlich unbeeinflußt. Die auftretenden Steigerungen machen nur wenige Prozent aus. Ferrisulfat und Ferro- und Ferrisaccharat fördern den Eiweißabbau in der Leber verhältnismäßig stärker. Die gesteigerte Autolyse macht sich bereits in sehr starken Verdünnungen bemerkbar und hält sich durch sämtliche untersuchten Konzentrationen annähernd auf der gleichen Höhe. Die Steigerungen betragen bis 19%.

Die Proteolyse der Milz verhält sich anders wie die der Leber. Die anorganischen Eisenverbindungen und das Ferrosaccarat sind nahezu wirkungslos. Ferrisaccharat hingegen hemmt den Eiweißabbau, wenn auch nicht gerade stark.

Im Gegensatz zur Leber ist die Milz sehr arm an Kohlenhydraten. Bei der Zerkleinerung der Leber geht ein großer Teil des Leberglykogens in Glucose über, nicht in Milchsäure, die beim Zerkleinern von Muskelgewebe sich in reichlichen Mengen aus Glykogen bildet. Im Lebergewebe geht die Proteolyse stets in Anwesenheit von viel Zucker vor sich. Da mit der Möglichkeit gerechnet werden mußte, daß die Glukose die Wirkung der Eisenverbindungen verändert, wurde in einem besonderen Versuche mit Milz (Tabelle 3) den Ansätzen Glukose in einer Konzentration von 0,5% hinzugefügt um die glucosehaltige Suspensionsflüssigkeit und damit ähnliche Bedingungen wie bei der Leber zu erhalten. Hierbei zeigte sich, daß die Glukose den Gang der Proteolyse nicht merklich verändert.

Die Muskelautolyse wird durch Ferrosulfat in höheren Verdünnungen stärker gefördert. (Maximum bei $1 \cdot 10^{-7}$ $Fe^{\cdot\cdot}$ um 20%). Auch bei Ferrisulfat liegt bei dieser Konzentration das Maximum der Förderung bei 12%. Höhere Ferrisulfatkonzentrationen hemmen deutlich. ($1 \cdot 10^{-3}$ $Fe^{\cdot\cdot\cdot}$ um 20%). Ferrisaccharat steigert die Autolyse maximal bei $1 \cdot 10^{-4}$ um 30%, setzt aber bei der nächst höheren Konzentration die Umsatzgeschwindigkeit auf den halben Wert des Kontrollwertes herab.

Tabelle 1.

Leber (Rind)

Konzentration	ccm n/100 Jod				% der Kontrolle			
	Ferro-sulfat	Ferri-sulfat	Ferro-sacch.	Ferri-sacch.	Ferro-sulfat	Ferri-sulfat	Ferro-sacch.	Ferri-sacch.
Kontrolle	8.40 ± 2.4% Streuung		9.00 ± 2.2% Streuung		100	100	100	100
1.10^{-10}	7.90	9.25	9.60	9.35	94	110	107	104
1.10^{-9}	8.15	9.50	9.90	9.95	97	113	110	111
1.10^{-8}	8.55	9.80	9.93	10.17	102	117	110	113
1.10^{-7}	8.65	9.40	10.10	10.25	103	112	112	114
1.10^{-6}	8.70	9.40	10.30	10.45	104	112	114	116
1.10^{-5}	8.70	9.40	10.70	10.23	104	112	119	114
1.10^{-4}	8.90	9.25	10.57	10.10	106	110	117	112
1.10^{-3}	9.00	8.95	10.20	12.35	107	106	113	137
Autolysendauer	22 Stunden		24 Stunden					

Tabelle 2.

Milz (Rind)

Konzentration	ccm n/100 Jod				% der Kontrolle			
	Ferro-sulfat	Ferri-sulfat	Ferro-sacch.	Ferri-sacch.	Ferro-sulfat	Ferri-sulfat	Ferro-sacch.	Ferri-sulfat
Kontrolle	10.80 ± 3.7% Streuung				100	100	100	100
1.10^{-10}	11.05	10.80	11.00	10.10	102	100	102	92
1.10^{-9}	11.00	11.30	11.05	10.10	102	105	102	92
1.10^{-8}	11.60	11.60	11.05	10.00	107	107	102	91
1.10^{-7}	11.10	11.40	11.00	10.00	103	105	102	91
1.10^{-6}	11.10	11.30	11.00	10.10	103	105	102	92
1.10^{-5}	11.10	11.30	11.60	10.10	103	105	98	92
1.10^{-4}	11.80	11.40	10.70	10.10	109	105	99	92
1.10^{-3}	12.00	11.50	10.95	13.05	111	106	101	121
Autolysendauer	24 Stunden							

Tabelle 3.

Milz (Rind

Kombination mit Glucose

Konzentration	ccm n/100 Jod				% der Kontrolle			
	Ferro-sulfat	Ferri-sulfat	Ferro-sacch.	Ferri-sacch.	Ferro-sulfat	Ferri-sulfat	Ferro-sacch.	Ferri-sacch.
Kontrolle	11.90 ± 3.7% Streuung		13.17 ± 3% Streuung		100	100	100	100
1.10^{-10}	12.55	12.15	13.35	12.55	105	102	101	96
1.10^{-9}	12.40	12.45	13.75	12.80	104	104	104	97
1.10^{-8}	12.30	12.85	13.85	12.95	103	108	105	98
1.10^{-7}	12.20	13.20	13.80	13.15	102	111	104	100
1.10^{-6}	11.55	12.85	12.45	13.20	97	108	95	100
1.10^{-5}	11.50	12.55	12.55	13.10	97	105	95	99
1.10^{-4}	11.35	12.45	12.65	12.95	95	104	97	98
1.10^{-3}	12.05	12.00	12.45	11.55	101	101	95	90
Autolysendauer	20 Stunden		22 Stunden					

Tabelle 4.

Muskel (Rind)

Konzentration	ccm n/100 Jod				% der Kontrolle			
	Ferro-sulfat	Ferri-sulfat	Ferro-sacch.	Ferri-sacch.	Ferro-sulfat	Ferri-sulfat	Ferro-sacch.	Ferri-sacch.
Kontrolle	1.78 ± 4.8% Streuung		2.15 ± 2.3% Streuung		100	100	100	100
1.10^{-10}	1.81	1.86	2.07	2.10	102	104	96	95
1.10^{-9}	2.00	1.86	2.07	2.10	112	104	96	95
1.10^{-8}	2.10	1.86	2.07	2.10	118	104	96	95
1.10^{-7}	2.14	2.00	2.20	2.15	120	112	102	98
1.10^{-6}	1.86	1.86	2.05	2.20	104	104	95	100
1.10^{-5}	1.71	1.71	2.10	2.70	96	96	97	123
1.10^{-4}	1.78	1.64	2.20	2.85	100	92	104	130
1.10^{-3}	1.86	1.43	1.75	1.05	104	80	81	49
Autolysendauer	22 Stunden		24 Stunden					

Aus den Versuchen geht hervor, daß die autolytischen Vorgänge in Leber, Milz und Muskel durch die anorganischen und komplexen Eisenverbindungen durchaus nicht in der gleichen Weise verändert werden, sondern daß jedem Organ seine besondere Giftempfindlichkeit zukommt, obgleich das bei diesem Vorgang wirksame Ferment das gleiche bleibt. Beim Arbeiten mit Glycerinextrakten aus diesen Organen würden jedenfalls, was noch näher zu untersuchen wäre, diese Unterschiede nicht herausgekommen sein, da hier die Ballaststoffe, welche mitbestimmend sind für den Verlauf der Proteolyse, zum größten Teil entfernt werden.

Versuchsreihe II.

(Tabelle 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11)

In weiteren Versuchen wurde die Wirkung der anorganischen und komplexen Verbindungen des Nickels, Kobalts, Mangans und Kupfers untersucht; zunächst die Wirkung der anorganischen Metallsalze (Tabelle 5—8).

Das unterschiedliche Verhalten der einzelnen Organe hinsichtlich ihrer Ansprechbarkeit auf die Metallsalze kommt hier besonders gut zum Ausdruck. Die Autolyse des Lebergewebes wird durch diese vier Metallsalze mit Ausnahme von Mangansulfat, das fast wirkungslos ist, stärker verändert.

Die Wirkung der Schwermetalle äußert sich in einer erheblichen Steigerung der Autolyse. Das Maximum der Wirkung liegt bei allen Verbindungen bei der gleichen Konzentration $1 \cdot 10^{-8}$ — $1 \cdot 10^{-7}$. Weitaus am stärksten wirksam sind Kupfersalze. Sie bewirken bereits in der stärksten von uns angewandten Verdünnung von $1 \cdot 10^{-10}$, bei der Nickel- und Kobaltsulfat kaum wirksam sind, eine Förderung des Umsatzes um 23%. Die Wirkung nimmt bei allen Sulfaten mit ansteigender Konzentration zu bis zu einem Maximum bei $1 \cdot 10^{-8}$ resp. $1 \cdot 10^{-7}$. Bei der höchsten von uns angewandten Konzentration von $1 \cdot 10^{-3}$ tritt nur beim Kupfer eine sehr starke Hemmung auf, die wohl auf der eiweißfällenden Wirkung des Kupfers beruhen dürfte.

Gänzlich abweichend von der Leber verhält sich die Milz. Alle Sulfate bewirken eine Hemmung der Milzautolyse. Diese ist nur gering bei Kobalt, etwas stärker bei Nickel. Mangan wirkt ähnlich wie Nickel, mit dem Unterschiede allerdings, daß die

Hemmung durch Mangan bei höheren Konzentrationen stärker ist als durch Nickel. Die stärkste Hemmung beobachten wir bei dem Kupfersulfat. Auffällig ist, daß die Hemmung, die bereits bei der stärksten von uns angewandten Verdünnung von $1 \cdot 10^{-10}$ sehr hochgradig ist, mit ansteigender Konzentration meist nicht noch größer wird, sondern gleich bleibt. Eine Erklärung für dies Verhalten kann nicht gegeben werden.

In der gleichen Weise wie in der Versuchsreihe I wurde auch hier ein Versuch mit Milzgewebe bei Zusatz von Glukose durchgeführt (Tabelle 7). Hierbei ergab sich, daß tatsächlich die Glukose die Wirkung von Metallsalzen auf die Proteolyse zu verändern imstande ist. In den entsprechenden Eisenversuchen hatte sich diese Wirkung der Glucose nicht nachweisen lassen. Durch den Zusatz von Glucose wird die starke Hemmungswirkung des Kupfersulfates vollkommen aufgehoben. Das gleiche gilt auch für die übrigen Sulfate, vielleicht mit Einschränkung für das Nickelsulfat. Hier bleibt eine Hemmung bestehen, wenn sie auch nicht so groß ist wie ohne Glucosezusatz. Bei Kobaltsulfat beobachten wir in höheren Konzentrationen nach Zuckerzusatz sogar beinahe eine leichte Anregung der Autolyse, während ohne Zuckerzusatz die Proteolyse eher verschlechtert wird.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Wirkung von Giften sehr stark abhängig ist vom Milieu.

Die Organspezifität zeigt sich weiterhin bei Betrachtung der Ergebnisse der Muskelautolyse. (Tabelle 8) Im Gegensatz zur Leber übt hier das Nickel die stärkste Wirkung aus. Das Maximum der Wirkung liegt hier bei einer Konzentration $1 \cdot 10^{-8}$ mit einer Steigerung von 31%. Das Mangan ist auch hier ähnlich wie bei der Leber ohne Wirkung. In stärkeren Verdünnungen tritt in beiden Organen eine sehr leichte Hemmung ein. Kupfer und Kobalt fördern in mittleren Konzentrationen annähernd um den gleichen Betrag. Kupfer hemmt wie in Leber und Milz bei der höchsten Konzentration.

Die Saccharate der Schwermetallverbindungen (Tabelle 9-11) verhalten sich anders wie die anorganischen Verbindungen. Sie sind weniger wirksam.

Das trifft besonders zu von Nickel- und Kobaltsaccharat, die keinerlei Einfluß auf die Leberautolyse ausüben. Das gleiche gilt auch für die stärksten Verdünnungen von Mangansaccharat, das erst in höheren Konzentrationen ganz wenig fördert. Kupfersaccharat beschleunigt nur in mittleren Verdünnungen kaum merklich die Autolyse, hemmt sie in höheren Konzentrationen.

Tabelle 5.

Leber (Rind)

Konzentration	ccm n/100 Jod				% der Kontrolle			
	Kupfer-sulfat	Nickel-sulfat	Kobalt-sulfat	Mangan-sulfat	Kupfer-sulfat	Nickel-sulfat	Kobalt-sulfat	Mangan-sulfat
Kontrolle	10.00 ± 3% Streuung				100	100	100	100
1.10^{-10}	12.35	10.40	10.90	9.45	123	104	109	94
1.10^{-9}	12.55	11.60	11.00	9.70	125	116	110	97
1.10^{-8}	13.20	12.00	11.22	9.95	132	120	112	99
1.10^{-7}	13.15	12.00	11.85	10.70	131	120	118	107
1.10^{-6}	12.50	11.20	11.20	10.55	125	112	112	105
1.10^{-5}	12.45	11.20	11.10	10.30	124	112	111	103
1.10^{-4}	11.70	11.10	10.50	10.20	117	111	105	102
1.10^{-3}	5.90	11.75	9.95	11.20	59	117	99	112
Autolysendauer	24 Stunden							

Tabelle 6.

Milz (Rind)

Konzentration	ccm n/100 Jod				% der Kontrolle			
	Kupfer-sulfat	Nickel-sulfat	Kobalt-sulfat	Mangan-sulfat	Kupfer-sulfat	Nickel-sulfat	Kobalt-sulfat	Mangan-sulfat
Kontrolle	11.90 ± 2.6% Streuung				100	100	100	100
1.10^{-10}	9.70	10.40	10.85	10.80	81	87	91	90
1.10^{-9}	8.80	10.40	11.00	10 30	74	87	92	87
1.10^{-8}	9.00	10.40	11.10	10.20	76	87	93	86
1.10^{-7}	8.75	10.40	11.30	10.20	74	87	95	86
1.10^{-6}	8.75	10.20	10.55	10.20	74	86	89	86
1.10^{-5}	8.70	10.25	10.50	9.30	73	86	89	78
1.10^{-4}	8.70	10.65	9.30	9.40	73	89	78	79
1.10^{-3}	5.60	10.75	10.50	9.60	47	90	89	80
Autolysendauer	24 Stunden							

Tabelle 7.

Milz (Rind)

Kombination mit Glucose

Konzentration	ccm n/100 Jod				% der Kontrolle			
	Kupfer-sulfat	Nickel-sulfat	Kobalt-sulfat	Mangan-sulfat	Kupfer-sulfat	Nickel-sulfat	Kobalt-sulfat	Mangan-sulfat
Kontrolle	11.70 ± 3.4% Streuung		11.17 ± 3.6% Streuung		100	100	100	100
1.10^{-10}	10.80	10.85	11.10	10.95	92	93	99	98
1.10^{-9}	11.60	10.90	11.00	11.35	99	93	99	101
1.10^{-8}	12.60	10.90	11.00	11.40	108	93	99	102
1.10^{-7}	11.95	10.85	11.55	11.50	102	93	103	103
1.10^{-6}	11.75	10.75	11.85	11.40	100	92	106	102
1.10^{-5}	11.45	10.90	12.15	11.25	98	93	108	100
1.10^{-4}	11.25	11.05	11.80	11.00	95	95	106	99
1.10^{-3}	4.95	11.30	11.45	10.80	42	97	102	97
Autolysendauer	20 Stunden		18 Stunden					

Tabelle 8

Muskel (Rind)

Konzentration	ccm n/100 Jod				% der Kontrolle			
	Kupfer-sulfat	Nickel-sulfat	Kobalt-sulfat	Mangan-sulfat	Kupfer-sulfat	Nickel-sulfat	Kobalt-sulfat	Mangan-sulfat
Kontrolle	2.70 ± 3.9% Streuung				100	100	100	100
1.10^{-10}	2.82	2.95	2.50	2.40	104	109	93	90
1.10^{-9}	2.90	3.45	2.60	2.50	108	128	96	93
1.10^{-8}	3.00	3.55	2.90	2.80	111	131	107	104
1.10^{-7}	3.00	2.90	3.00	2.80	111	108	111	104
1.10^{-6}	3.00	3.20	3.10	2.80	111	119	115	104
1.10^{-5}	2.90	3.50	3.10	2.60	108	129	115	96
1.10^{-4}	2.50	3.31	3.00	2.50	93	123	111	93
1.10^{-3}	2.00	3.30	2.57	2.65	80	122	95	98
Autolysendauer	24 Stunden							

Tabelle 9.

Leber (Rind)

Konzentration	ccm n/100 Jod				% der Kontrolle			
	Kupfer-sacch.	Nickel-sacch.	Kobalt-sacch.	Mangan-sacch.	Kupfer-sacch.	Nickel-sacch.	Kobalt-sacch.	Mangan-sacch.
Kontrolle	$7.75 \pm 4.5\%$ Streuung				100	100	100	100
1.10^{-11}	7.85	7.75	7.65	7.60	101	100	98	97
1.10^{-10}	8.15	7.65	7.70	7.65	105	98	99	98
1.10^{-9}	8.45	7.60	7.65	7.65	109	97	98	98
1.10^{-8}	8.65	7.65	7.85	7.80	112	98	101	100
1.10^{-7}	8.85	7.65	7.90	8.05	114	98	102	104
1.10^{-6}	7.75	7.60	8.05	8.25	100	97	104	106
1.10^{-5}	6.70	7.65	8.15	8.45	86	98	105	109
1.10^{-4}	5.85	7.98	8.95	8.50	75	103	116	110
Autolysendauer	24 Stunden							

Tabelle 10.

Milz (Rind)

Konzentration	ccm n/100 Jod				% der Kontrolle			
	Kupfer-sacch.	Nickel-sacch.	Kobalt-sacch.	Mangan-sacch.	Kupfer-sacch.	Nickel-sacch.	Kobalt-sacch.	Mangan-sacch.
Kontrolle	$10.30 \pm 2.9\%$ Streuung				100	100	100	100
1.10^{-11}	10.75	10.35	11.00	10.30	104	100	107	100
1.10^{-10}	10.80	10.55	11.10	10.65	105	102	108	103
1.10^{-9}	11.00	11.15	11.35	10.85	107	107	110	105
1.10^{-8}	11.20	11.45	11.45	11.00	109	111	111	107
1.10^{-7}	10.75	10.95	11.70	11.25	104	106	113	109
1.10^{-6}	10.60	10.85	11.00	11.10	103	105	107	108
1.10^{-5}	9.95	11.50	10.65	10.85	96	112	103	105
1.10^{-4}	6.45	11.75	11.45	10.95	62	114	111	106
Autolysendauer	24 Stunden							

Tabelle 11.

Muskel (Rind)

Konzentration	ccm n/100 Jod				% der Kontrolle			
	Kupfer-sacch.	Nickel-sacch.	Kobalt-sacch.	Mangan-sacch.	Kupfer-sacch.	Nickel-sacch.	Kobalt-sacch.	Mangan-sacch.
Kontrolle	1.97 ± 5% Streuung				100	100	100	100
1.10^{-11}	1.75	1.55	1.70	1.95	89	79	86	98
1.10^{-10}	1.85	1.50	1.75	1.90	94	76	89	97
1.10^{-9}	1.95	1.40	1.80	1.95	98	71	91	98
1.10^{-8}	2.00	1.35	1.75	2.05	102	69	89	104
1.10^{-7}	1.95	1.30	1.65	2.25	98	66	84	114
1.10^{-6}	1.90	1.55	1.60	2.30	96	79	81	117
1.10^{-5}	1.80	1.50	1.70	2.35	91	76	86	119
1.10^{-4}	1.40	1.20	1.90	2.70	71	61	97	137
Autolysendauer	24 Stunden							

Die Bildung der Eiweißspaltprodukte in der Milz (Tabelle 10) wird durch alle Saccharate im Gegensatz zu den anorganischen Salzen, die stark hemmen, gefördert. Sämtliche Saccharate sind hierbei annähernd gleich stark wirksam. Das Maximum der Wirkung tritt bei der Verdünnung $1 \cdot 10^{-8}$ — $1 \cdot 10^{-7}$ auf. (Steigerung von 9—13%.)

Auch auf die Autolyse des Muskelgewebes (Tabelle 11) wirken die Saccharate in anderer Weise ein wie die anorganischen Salze. Während Kupfer-, Nickel-, und Kobaltsulfat die Proteolyse des Muskels steigern, führen die entsprechenden Saccharate zu einer Hemmung, die besonders stark durch Nickelsaccharat ist. Das Kupfersaccharat ist fast ohne jeden Einfluß. Mangansaccharat allein fördert besonders in höheren Konzentrtionen die Eiweißspaltung.

Versuchsreihe III.

(Tabelle 12, 13, 14, 15)

Während in den bisherigen Versuchen die Wirkung der Schwermetallverbindungen auf die Gewebsproteolyse für sich allein untersucht wurde, ist in der letzten Versuchsreihe die Kombinationswirkung des Ferro- bezw. Ferrisaccharates und der Saccharate von Nickel, Kobalt, Mangan und Kupfer geprüft worden. Die Versuche wurden angestellt um Auskunft darüber zu erhalten, ob die Wirkung des Eisens, wie Starkenstein[36]) annimmt, durch Zusatz der übrigen Schwermetalle von Grund auf verändert wird.

Die in den Tabellen 12—15 wiedergegebenen Versuche lassen die Versuchsergebnisse erkennen, die bei der Kombination der gleichen Menge von Eisensaccharat mit den übrigen Saccharaten gewonnen wurden.

Rein theoretisch sind bei der gleichzeitigen Wirkung von 2 verschiedenen Stoffen folgende Gesamtwirkungen denkbar: 1. Die Gesamtwirkung ist gleich der Summe der Einzelwirkungen. 2. Die beiden Verbindungen potenzieren sich gegenseitig in ihrer Wirkung. 3. Die Wirkung des einen Giftes wird durch die Wirkung des anderen abgeschwächt, wobei eine gegenseitige Aufhebung eintreten kann.

Wie eingangs gezeigt wurde, wird die Autolyse der Leber durch Ferro- und Ferrisaccharat gesteigert. Desgleichen durch Kupfersaccharat, während die Saccharate von Mangan, Kobalt und Nickel praktisch unwirksam waren. Wie aus den Versuchen der Tabelle 12 hervorgeht, wird der fördernde Einfluß des Ferrosaccharates und Ferrisaccharates durch die übrigen Saccharate vollkommen aufgehoben.

Besonders eindrucksvoll ist dieses Verhalten für die Kombination des Eisensaccharates mit Kupfersaccharat, die beide für sich allein die Proteolyse steigern. Während z. B. die Verdünnung Kupfersaccharat $1 \cdot 10^{-8}$ die Autolyse um 12% steigerte, die gleiche Konzentration Ferrosaccharat um 10%, beobachten wir bei der Kombination beider Saccharate eine vollkommene Wirkungslosigkeit. Bei Addition der Einzelwirkungen hätte sich eine Förderung um 22% ergeben müssen. Bei der gleichen Konzentration der gleichen Teile Ferrisaccharat mit Kupfersaccharat tritt eine Förderung von 7% auf, bei Kupfersaccharat allein

[36]) E. Starkenstein: zit pag. 7.

von 12% und Ferrisaccharat von 13%. Die Wirkung beider Saccharate hat sich also vollkommen abgeschwächt.

Die Proteolyse der Milz, die durch Ferrosaccharat nicht verändert, durch Ferrisaccharat wenig gehemmt wird, erfährt durch die übrigen Saccharate eine leichte Förderung. In der Kombination des Ferrosaccharates mit den anderen Saccharaten wird von gewissen Konzentrationen abgesehen, eine völlige Wirkungslosigkeit erzielt. Das Ferrosaccharat, welches selbst unwirksam ist, hat die Wirksamkeit der übrigen Saccharate aufgehoben.

Versucht man statt Ferrosacharat Ferrisaccharat, so sieht man in der Kombination mit den anderen Sacccharaten lediglich Hemmungswirkungen auftreten, die am stärksten sind in der Kombination mit Kupfer. Allein bei der höchsten von uns angewandten Konzentration $1 \cdot 10^{-4}$ tritt bei der Kombination von Ferrisaccharat mit den übrigen Saccharaten eine Förderung auf, nicht aber bei der Kombination mit Ferrosaccharat.

Besonders stark ist die Förderung der Ferrisaccharate durch Kupfer. Die Autolyse ist hier auf mehr als den doppelten Betrag gesteigert.

Die Versuche brachten erneut den Nachweis, daß es nicht statthaft ist, aus den bekannten Einzelwirkungen von 2 verschiedenen Stoffen Rückschlüsse auf ihre Kombination zu ziehen. Es ist mit der Möglichkeit zu rechnen, daß bei der Veränderung des Mischungsverhältnisses Eisen zu Kupfer, bezw. Nickel zu Kobalt das Wirkungsbild sich weitgehendst verändert und sich hier vollkommen andere Kombinationswirkungen ergeben. Hierauf mögen unter Umständen die widersprechenden Angaben im Schrifttum beruhen, die einmal über einen günstigen Einfluß von Kupfer auf Eisen berichten [37] [38]), dann aber wieder nicht nur diese günstige Wirkung vermissen, sondern sogar eine Verschlechterung der Eisenwirkung erkennen lassen. [39]) [40]) [41]) [42])

---

[37]) J. Waddel, H. Steenbock u. E. B. Hart: J. of biol. Chem. 83, 243, 1929.

[38]) J. Elvehjem: J. amer. med. Assoc. 98. 13, 1932, zit. n. Heffters Handb. d. exp. Pharm. Berlin Springer 3/II, 1183, 1934.

[39]) Elden, Warren, de Sperry, Robscheid-Robbins und Whipple: J. of biol. Chem. 79, 577, 1928.

[40]) Robscheid-Robbins u. Whipple: J. of exp. Med. 49, 215, 1928.

[41]) Robscheid-Robbins: Reprint. f. Physiolog. Rev. 9, Nr. 4, 1929.

[42]) Whipple, Robscheid-Robbins und Sperry: J. of biol. Chem. 81, 251, 1929, zit. n. Heffters Handb. d. exp. Pharm. Berlin, Springer, 3/II, 1170, 1934.

Tabelle 12.

Leber (Rind)

Kombination mit Ferrosaccharat

Konzentration	ccm n/100 Jod				% der Kontrolle			
	Kupfer-sacch.	Nickel-sacch.	Kobalt-sacch.	Mangan-sacch.	Kupfer-sacch.	Nickel-sacch.	Kobalt-sacch.	Mangan-sacch.
Kontrolle	8.17 ± 2% Streuung				100	100	100	100
1.10^{-11}	9.25	7.85	7.25	7.00	114	96	89	85
1.10^{-10}	8.75	7.90	7.30	7.50	106	96	89	92
1.10^{-9}	8.25	7.90	7.95	7.75	101	96	97	95
1.10^{-8}	8.00	7.95	8.10	7.20	99	97	99	87
1.10^{-7}	7.75	7.85	8.20	6.90	95	96	100	84
1.10^{-6}	7.60	7.35	7.90	6.80	93	89	96	83
1.10^{-5}	7.35	8.15	7.20	6.20	90	100	87	72
1.10^{-4}	5.85	8.25	6.60	5.60	72	101	81	69
Autolysendauer	24 Stunden							

Tabelle 13

Leber (Rind)

Kombination mit Ferrisaccharat

Konzentration	ccm n/100 Jod				% der Kontrolle			
	Kupfer-sacch.	Nickel-sacch.	Kobalt-sacch.	Mangan-sacch.	Kupfer-sacch.	Nickel-sacch.	Kobalt-sacch.	Mangan-sacch.
Kontrolle	7.03 ± 2.5% Streuung				100	100	100	100
1.10^{-11}	7.65	7.00	6.50	7.80	109	100	92	111
1.10^{-10}	7.60	7.45	6.90	7.75	108	106	98	110
1.10^{-9}	7.45	7.60	7.00	7.05	106	108	100	100
1.10^{-8}	7.55	7.20	7.15	7.00	107	102	101	100
1.10^{-7}	7.60	6.60	7.10	7.20	108	94	101	102
1.10^{-6}	7.80	6.45	7.05	7.30	111	92	100	104
1.10^{-5}	7.85	6.40	6.90	7.25	111	91	98	103
1.10^{-4}	6.55	7.10	6.70	5.85	93	101	95	83
Autolysendauer	24 Stunden							

Tabelle 14

Milz (Rind)

Kombination mit Ferrosaccharat

Konzentration	ccm n/100 Jod				% der Kontrolle			
	Kupfer-sacch.	Nickel-sacch.	Kobalt-sacch.	Mangan-sacch.	Kupfer-sacch.	Nickel-sacch.	Kobalt-sacch.	Mangan-sacch.
Kontrolle	17.00 ± 3 % Streuung				100	100	100	100
1.10^{-11}	17.50	17.50	15.75	17.25	103	103	93	101
1.10^{-10}	17.50	17.50	16.50	17.20	103	103	97	101
1.10^{-9}	17.40	17.55	16.90	17.30	102	103	98	102
1.10^{-8}	17.50	17.65	15.25	17.20	103	103	90	101
1.10^{-7}	17.60	16.95	14.45	16.85	103	100	85	98
1.10^{-6}	17.60	16.95	15.20	17.35	103	100	90	102
1.10^{-5}	14.30	17.00	16.35	17.35	84	100	96	102
1.10^{-4}	11.15	16.85	16.15	17.35	66	98	95	102
Autolysendauer	24 Stunden							

Tabelle 15

Milz (Rind)

Kombination mit Ferrisaccharat

Konzentration	ccm n/100 Jod				% der Kontrolle			
	Kupfer-sacch.	Nickel-sacch.	Kobalt-sacch.	Mangan-sacch.	Kupfer-sacch.	Nickel-sacch.	Kobalt-sacch.	Mangan-sacch.
Kontrolle	12.60 ± 2.5 % Streuung				100	100	100	100
1.10^{-11}	10.00	11.20	9.80	12.50	79	89	78	99
1.10^{-10}	9.90	10.80	10.45	11.55	79	85	83	92
1.10^{-9}	9.80	10.60	10.55	10.60	78	84	84	84
1.10^{-8}	9.75	10.50	10.60	10.20	77	83	84	81
1.10^{-7}	9.60	10.50	10.15	10.80	76	83	81	85
1.10^{-6}	9.55	11.30	10.95	11.20	76	90	87	89
1.10^{-5}	10.20	11.60	11.10	11.50	81	92	88	91
1.10^{-4}	27.10	14.50	14.85	18.40	215	115	118	146
Autolysendauer	24 Stunden							

Zusammenfassung.

Es wurde der Einfluß von anorganischen und komplexgebundenen Eisen-, Nickel-, Kobalt-, Mangan- und Kupferverbindungen auf die Autolyse von Leber, Milz und Muskel untersucht.

Und zwar ist im Gegensatz zu den verschiedenen neueren Autoren, die mit den aus den einzelnen Organen gewonnenen Glycerinauszügen arbeiteten, bei den vorliegenden Versuchsreihen der ganze Organbrei benutzt. Ganz abgesehen davon, daß bei der postmortalen Autolyse die Gewebsproteinase weitgehend beeinflußt wird von den in den jeweiligen Organen auftretenden wirkungsbeschränkenden Adsorptionen und sehr viele Schwermetallsalze infolge ihrer adstringierenden Wirkung auf das Gewebe die Gewebsoberfläche für das angreifende Enzym verringern, bekommt man auf diese Weise auch natürliche Versuchsbedingungen, die gestatten den Abbau des gesamten Organeiweißes zu verfolgen, während bei der Extraktautolyse nur ein verschwindend kleiner Teil zur Spaltung kommt.

Durch die Versuche ergab sich, daß die proteolytischen Vorgänge in den genannten Organen durch Zusatz von diesen Salzen absolut nicht in der gleichen Weise beeinflußt werden. Obgleich das bei der Autolyse wirksame Ferment in allen Organen dasselbe ist, so besitzt doch jedes Organ für sich seine eigene Giftempfindlichkeit.

Die Proteolyse der Leber wird durch Ferrosulfat nahezu völlig unbeeinflußt gelassen, während Ferrisulfat, sowie Ferro- und Ferrisaccharat die autolytischen Vorgänge in der Leber verhältnismäßig stärker fördern. Die Eiweißspaltung in der Milz verhält sich den anorganischen Eisenverbindungen und Ferrosaccharat gegenüber ebenfalls beinahe indifferent. Ferrisaccharat hingegen hemmt die Autolyse, wenn auch nur schwach.

Bei der Muskelproteolyse läßt sich sowohl bei Ferro- als auch bei Ferrisulfat in mittleren Verdünnungen eine stärkere Steigerung beobachten. Höhere Konzentrationen zeigen eine deutliche Hemmung.

Besonders gut tritt die Organspezifität bei den anorganischen Verbindungen von Nickel, Kobalt, Mangan und Kupfer in Erscheinung. Mit Ausnahme von Mangansulfat, das fast wirkungslos ist, wird die Autolyse der Leber durch diese Metallsalze stark beschleunigt. Am meisten wirksam ist Kupfersulfat. Völlig

anders verläuft die Bildung der Eiweißspaltprodukte bei Milzgewebe. Alle Sulfate lassen ein starkes Sinken der Umsatzgeschwindigkeit erkennen, die bei Kobalt nur gering, bei Nickel und Mangan stärker ist. Die stärkste Hemmung beobachten wir bei Kupfer. Durch Zusatz von Glukose kann indessen diese starke Hemmungswirkung auf die Milzautolyse völlig wieder aufgehoben werden. Bei der Proteolyse des Muskels übt von den erwähnten Metallsalzen das Nickelsulfat den stärksten Einfluß aus.

Die Saccharate der Schwermetallverbindungen verhalten sich anders wie die anorganischen Salze. Sie sind weniger wirksam. Nickel- und Kobaltsaccharat beeinflussen den Eiweißabbau in der Leber in keiner Weise. Mangansaccharat fördert erst schwach in höheren Konzentrationen. Kupfersaccharat hemmt in höheren, beschleunigt in mittleren Konzentrationen. Die Milzautolyse wird durch alle Saccharate im Gegensatz zu den anorganischen Salzen, die stark hemmen, gering gefördert. Auch die Proteolyse des Muskels wird durch die Saccharate anders beeinflußt als durch die anorganischen Verbindungen. Während Nikkel-, Kobalt- und Kupfersulfate die Eiweißspaltung im Muskelgewebe steigern, haben die entsprechenden Saccharate eine gegenteilige Wirkung.

Bei der Untersuchung der Kombinationswirkung von Ferro- bezw. Ferrisaccharat mit den Saccharaten von Nickel, Kobalt, Mangan und Kupfer ergab sich, daß der fördernde Einfluß des Ferro- und Ferrisaccharates bei der Leberautolyse durch die übrigen Saccharate völlig beseitigt wird. Bei der Proteolyse der Milz hebt umgekehrt das Ferrosaccharat, welches selbst unwirksam ist, in der Kombination mit den anderen Saccharaten die steigernde Wirkung dieser Metallsalze mehr oder weniger auf. Kombinationen von Ferrisaccharaten mit den anderen Saccharaten zeigen bei der Eiweißspaltung im Milzgewebe lediglich Hemmungswirkungen, die am größten sind bei der Kombination mit Kupfer. Nur in den stärksten von uns angewandten Konzentrationen bei $1 \cdot 10^{-4}$ beobachten wir eine Steigerung, die aber nicht eintritt bei der Kombination mit Ferrosaccharaten.

Zum Schluß ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Dozenten Dr. med. et phil. W. Haarmann meinen herzlichsten Dank auszusprechen für seine wertvollen Anregungen und seinen steten Rat bei der Anfertigung der Arbeit.

Lebenslauf.

Am 21. September 1901 wurde ich Xaver, Gustav Krekeler in Ottenhausen, Kreis Höxter geboren. Nach erfolgter Reifeprüfung zu Warburg Ostern 1921 studierte ich 5 Semester Naturwissenschaften in Würzburg, München und Gießen und 4 Semester Bergbau an der Bergakademie in Clausthal. Nachdem ich Oster 1926 in Clausthal den Grad eines Diplom-Ingenieurs für die Fachrichtung Bergbau erworben hatte, promovierte ich im Februar 1928 an der Hessischen Landes-Universität zu Gießen auf Grund einer Arbeit „Geologische Untersuchungen in der nördlichen Lahnmulde“ zum Dr. phil.

Von Februar 1928 bis 1930 war ich in Europa, von 1930 bis 1934 in Ost-Indien als Montangeologe tätig. Gesundheitliche Rücksichten zwangen mich 1934 zum Berufswechsel.

Mein zahnmedizinisches Studium verbrachte ich in Münster, wo ich im April 1935 das Physikum und im Mai 1937 das Staatsexamen bestand.

Dr. phil. X. G. Krekeler.